

**Quantitative chromatographische Analyse
der Aminosäuren-Ausscheidung
bei Kindern verschiedener Altersstufen**

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HANNELORE BUCHNER

aus Basel

Basel 1953



Verlag von S. Karger in Basel



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548804_0023

Quantitative chromatographische Analyse
der Aminosäuren-Ausscheidung
bei Kindern verschiedener Altersstufen

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HANNELORE BUCHNER

aus Basel

Basel 1959



Verlag von S. Karger in Basel



Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. M. Brenner und Dr. H. Erlenmeyer.

Basel, den 25. Juni 1957.

Prof. Dr. W. Becker
Dekan.

Fräulein *Hannelore Buchner* wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 25. Juni 1957 erlaubt, diese verkürzte Fassung ihrer am 25. Juni 1957 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

«*Quantitative Analyse von Aminosäuren-Gemischen.
Aminosäuren-Ausscheidung bei Kindern verschiedener
Altersstufen*»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Organisch-Chemischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

Quantitative chromatographische Analyse der Aminosäuren-Ausscheidung bei Kindern verschiedener Altersstufen

I. Einleitung.

In der Medizin sind, wie *H. Berger* im vorausgehenden (1) eingehend dargelegt hat, mehrere Krankheiten bekannt, die sich durch eine erhöhte Aminosäuren-Ausscheidung im Harn auszeichnen. Um die pathologisch veränderte Aminosäuren-Ausscheidung erkennen und richtig einschätzen zu können, schien es wichtig, erst die normalen physiologischen Verhältnisse aufzuklären. *H. Berger* (1), Kinderspital Basel, untersuchte daher gegen 300 Urine auf ihren Gehalt an α -Amino-Stickstoff. Er fand Amino-Stickstoff-Werte, die ziemlich konstant zwischen 0,4 und 1,6% des Total-Stickstoffs liegen mit drei Ausnahmen, nämlich während der ersten Lebenswochen, in der Pubertät und im Greisenalter.

Um diese interessanten Tatsachen interpretieren zu können, ist es von großer Bedeutung, auch die ausgeschiedenen Mengen jeder einzelnen Aminosäure zu kennen und die Werte verschiedener Altersperioden miteinander zu vergleichen. Wir suchten daher nach einer geeigneten Methode zur quantitativen Bestimmung der üblicherweise im Harn ausgeschiedenen Aminosäuren. Es wurden folgende Forderungen an die zu wählende Methode gestellt: Sie sollte erlauben, biologische Flüssigkeiten ohne zeitraubende und verlustreiche Vorbehandlung zu untersuchen. Ferner sollte sie eine große Genauigkeit gewähren, um auch kleine Unterschiede in der Ausscheidung der einzelnen Aminosäuren feststellen zu können.

Da wir zur Abklärung unseres Problems mit der Untersuchung einer großen Anzahl von Urinen rechnen mußten, sollten die Bestimmungen auch in nützlicher Frist durchgeführt werden können.

Die Chromatographie an Ionenaustauschern, insbesondere die von *Moore* und *Stein* (2) entwickelte Methode, kombiniert mit der kolorimetrischen Ninhydrinmethode (3), entspricht den gestellten Anforderungen in jeder Beziehung. Die Kapazität der Austauschersäule ist so hoch, daß biologische Flüssigkeiten ohne Entsalzung verwendet werden können. Ferner liegt auch die Genauigkeit innerhalb der gewünschten Grenzen von ± 3 bis 5%.

II. Prinzip der Methode zur Trennung von Aminosäuren-Gemischen (2).

Durch Chromatographie eines Aminosäurengemisches (z. B. eine biologische Flüssigkeit) an dem stark sauren Ionenaustauscher Dowex-50 lassen sich die einzelnen sauren und neutralen Aminosäuren getrennt isolieren. Eine Säule von 100 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser wird mit 3—6 mg Aminosäurengemisch (0,1—0,5 mg pro Aminosäure) beladen. Die Elution erfolgt durch Citratpuffer, dessen pH im Verlaufe der Trennung erhöht wird (pH 2,53—pH 4,25).

Zur Trennung der basischen Aminosäuren, die in der genannten Versuchsanordnung auf dem Harz verbleiben, eignet sich besser eine Dowex-50-Säule von 15 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser. In diesem Falle eluiert man mit Puffern von pH 5—pH 6,8.

Die Abtrennung von Cystin (4) erfolgt am besten durch Oxydation zu Cysteinsäure und Chromatographie über eine Säule (15 cm/0,9 cm) des stark basischen Ionenaustauschers Dowex-2 mit 0,1-n. Monochloressigsäure.

Jede in einer biologischen Flüssigkeit enthaltene individuelle Aminosäure kann somit durch drei Chromatogramme von allen Begleitsubstanzen abgetrennt und quantitativ bestimmt werden.

Die quantitative Bestimmung in sämtlichen aufgefangenen Fraktionen erfolgt nach Umsetzung mit Ninhydrin (3) auf kolorimetrischem Wege.

III. Praktische Erprobung der Quantitativen Aminosäuren-Bestimmung.

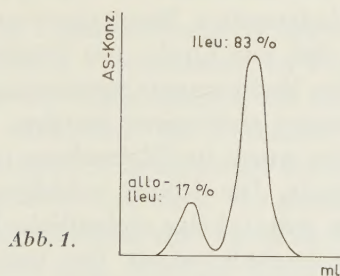
Trotzdem die im vorstehenden Abschnitt erwähnte Methode ausgezeichnet beschrieben ist, ergaben sich bei der Nacharbeitung einige Schwierigkeiten. Über deren Behebung und experi-

mentelle Details verweisen wir auf eine vorläufige frühere Mitteilung (5) und insbesondere auf die Dissertation *H. Buchner* (6). Es ist uns schließlich gelungen, die Auftrennung eines künstlichen Aminosäurengemisches mit gutem Erfolg zu reproduzieren. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Ausbeuten der einzelnen Aminosäuren (Durchschnittswerte aus 6 Analysen)¹.

TABELLE I.

Asparaginsäure	101,0 ± 1,31%
Threonin	99,3 ± 2,22%
Serin	102,5 ± 2,58%
Glutaminsäure	98,7 ± 2,63%
Prolin	101,9 ± 3,10%
Glycin	98,8 ± 2,35%
Alanin	100,4 ± 0,75%
Valin	101,0 ± 1,61%
Methionin	112,1 ± 7,96%
Isoleucin	85,4 ± 0,48%
Leucin	100,6 ± 1,61%
Tyrosin	98,0 ± 4,28%
Phenylalanin	101,6 ± 2,50%
β-Alanin	100,5 ± 4,90%
Histidin	99,1 ± 1,90%
Lysin	99,7 ± 3,10%
Arginin	100,3 ± 4,60%
Cystin	97,9 ± 0,40%

Die zu hohen Ausbeuten an Methionin und die zu niedrigen an Isoleucin stehen miteinander in Beziehung. *allo*-Isoleucin und Methionin treten unter den gegebenen Versuchsbedingungen gleichzeitig aus der Säule aus, während Isoleucin einwandfrei von Me-



¹ Die mittlere Abweichung *m* wurde nach folgender Formel berechnet:

$$m = \pm \sqrt{\frac{\sum (v)^2}{n - 1}}$$

Dabei ist *v* die Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert und *n* die Anzahl der Bestimmungen.

thionin abgetrennt wird. Chromatographiert man das als Referenzmuster dienende Isoleucin allein, so erhält man eine Auftrennung in zwei Substanzen, wie dies Abb. 1 wiedergibt². Der Gehalt an *allo*-Isoleucin in unserem DL-Isoleucin «Roche» beträgt 17%, was die Unstimmigkeiten bei den Methionin-Isoleucin-Resultaten in Tab. I erklärt. Für die große Streuung bei der Bestimmung von Methionin ist die Oxydation zu Methioninsulfoxyd und Methioninsulfon verantwortlich³.

IV. Untersuchung von Urinproben.

Nachdem es gelungen war, mit Hilfe der Methode von *Moore* und *Stein* ein künstliches Aminosäurengemisch mit Ausbeuten von 98—102% und einer mittleren Abweichung von höchstens $\pm 4,9\%$ in seine Komponenten zu zerlegen, besaßen wir ein Mittel, die geplanten Urinuntersuchungen ausführen zu können.

Im Anschluß an die von *Berger* durchgeführten Amino-Stickstoff-Untersuchungen im 24-Stunden-Urin in Abhängigkeit vom Lebensalter beschlossen wir, zunächst die drei folgenden Altersgruppen zu untersuchen:

Säuglinge	12—34 Tage alt
Säuglinge	5—15 Monate alt
Kinder	11—16 Jahre alt

Aus zeitlichen Gründen mußte die Untersuchung von 5—8 Jahre alten Kindern, erwachsenen Personen von 20—60 Jahren sowie von Greisen auf einen späteren Zeitpunkt verschoben werden. Zur Untersuchung der ersten zwei Altersgruppen wurde Urin von Säuglingen des Kinderspitals Basel gesammelt. Es wurde streng darauf geachtet, daß nur Kinder mit möglichst normalem Stoffwechsel, denen keine Medikamente verabreicht werden mußten, in die Untersuchungen einbezogen wurden. Der Urin von Kindern im Pubertätsalter wurde im Waisenhaus und in einer Erziehungsanstalt gesammelt. Die Kinder erhielten während der Sammelperiode normale, jedoch keine einheitliche Kost. Während der 24stündigen Sammelperiode wurde der Urin durch einige Thymolkristalle vor bakterieller Zersetzung geschützt. Nach Beendigung der Sammelperiode wurde das gesamte Urinvolumen

² Die gleiche Beobachtung ist in der Zwischenzeit auch von andern Autoren gemacht worden; vgl. (7).

³ Diese Schwierigkeit läßt sich gegebenenfalls überwinden; vgl. (8).

gemessen, der Amino-Stickstoff nach *Antener* (9), der *Ammoniak* nach *Conway* (10) und der Total-Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Ein Teil des Urins wurde nun mit Trockeneis in Aceton eingefroren und bis zur Bestimmung der einzelnen Aminosäuren in einer Tiefkühltruhe bei -20°C aufbewahrt.

Da eine Doppelanalyse eines einzigen Urins zwei Wochen beansprucht, wäre es unmöglich gewesen, durch Einzelanalysen in-
nert nützlicher Frist genügend Resultate für eine statistische Auswertung zu erhalten. Infolgedessen wurde der Urin von 15 bis 17 Kindern der entsprechenden Altersgruppen im Verhältnis der jeweiligen Totalvolumina zu einem Sammelurin vereinigt und die Resultate als Durchschnittswert von 15 bis 17 Einzelanalysen betrachtet. Um die Standard-Abweichung der einzelnen Individuen vom Mittelwert berechnen zu können, wurden zusätzlich zum Sammelurin drei Einzelurin-Untersuchungen durchgeführt. Zur Berechnung der Standard-Abweichung $\sigma_{\bar{x}}$ der Stichprobenmittelwerte wurde von Prof. Dr. Batschelet, Dozent für Mathematik an der Universität Basel, folgendes Schema vorgeschlagen:

a) Schätzung der Streuung σ durch Multiplikation der Variationsbreite (Differenz zwischen Maximalwert und Minimalwert) der Einzelurinanalysen mit 0,59, wenn drei Werte vorliegen ($n = 3$) (11).

b) Aus der Streuung σ wird die Standard-Abweichung der Stichprobenmittelwerte $\sigma_{\bar{x}}$ berechnet durch Division von σ durch $\sqrt{m}$, wobei m die Anzahl Urine bezeichnet, die zu einem Sammelurin vereinigt wurden.

Resultate.

Die folgenden Tabellen II und III sowie Abbildung 2 enthalten die Resultate unserer Versuchsserie. In Tabelle II ist die absolute Menge der einzelnen Aminosäuren, die innert 24 Stunden ausgeschieden wird, dargestellt. Mit Ausnahme von Prolin liegen die Werte im Säuglingsalter beträchtlich tiefer als im Pubertätsalter. Die 12—34 Tage alten und die 5—15 Monate alten Säuglinge hingegen zeigen untereinander sehr ähnliche Werte. Ein vollkommen anderes Bild erhält man, wenn der Amino-Stickstoff als Anteil des ausgeschiedenen Total-Stickstoffs berechnet wird, wie dies in Tabelle III und Abbildung 2 der Fall ist. Mit Ausnahme von Taurin finden wir nun, wie dies Abbildung 2 gut veranschaulicht, die höchsten Werte bei den 12—34 Tage alten Säuglingen. Die Werte der 5—15 Monate alten Säuglinge liegen viel tiefer als diejenigen

TABELLE II.

Aminosäuren-Ausscheidung in mg pro 24-Stunden-Urin.

Aminosäure Alter	Tau	Asp a)	Thr	Ser b)	Glu	Pro	Gly	Ala c)	Val	Met d)	Ileu d)	Leu d)	Tyr	Phe	Cys	His	Lys e)	Arg
12—34 Tage:																		
Urin A (1) *	1,9	2,2	2,7	7,5	2,1	5,7	25,8	5,7	0,6	2,0	0,9	1,0	1,8	0,8	1,8	8,4	3,7	0,7
Urin B (1)	2,9	2,1	3,4	3,3	3,5	4,3	24,4	6,3	0,9	1,2	1,0	1,1	1,6	1,1	?	10,6	7,8	0,7
Urin C (1)	11,1	2,4	3,3	14,0	3,1	5,6	23,2	10,9	2,6	3,9	2,9	3,9	4,6	3,0	5,3	12,4	13,6	3,0
Urin D (15)	4,1	2,3	4,4	9,5	3,3	3,9	27,5	8,1	2,5	1,8	1,9	3,0	2,6	1,6	2,6	15,9	13,9	1,2
5—15 Monate:																		
Urin E (1)	3,4	3,4	5,1	15,8	3,4	0,7	16,6	9,9	2,5	2,7	2,1	1,9	7,9	4,7	1,2	28,6	12,0	0,5
Urin F (1)	3,8	3,0	10,9	26,1	6,1	0,8	66,7	15,5	3,6	3,3	2,7	3,2	8,6	5,8	0,8	44,5	16,5	0,6
Urin G (1)	1,2	2,5	4,6	5,7	3,6	1,1	13,1	7,2	2,0	1,8	1,3	1,1	4,2	2,3	0,4	18,3	10,4	0,2
Urin H (15)	2,8	4,4	6,4	11,5	6,1	1,2	23,8	9,9	1,9	3,1	2,4	1,9	5,8	3,7	0,7	32,6	16,8	0,6
11—16 Jahre:																		
Urin I (1)	96,2	14,9	27,3	62,7	13,1	—	102,3	32,5	12,6	16,2	12,2	13,8	46,7	17,0	10,4	209	52,3	6,6
Urin K (1)	86,9	13,3	17,3	50,2	6,5	—	83,7	21,4	6,6	10,5	6,4	5,7	19,4	11,8	4,6	186	27,8	4,8
Urin L (1)	78,2	23,4	32,5	69,1	30,0	3,1	114,0	28,8	11,0	14,2	11,4	9,2	53,7	15,9	6,5	274	52,1	4,1
Urin M (17)	80,8	18,8	27,8	58,1	29,1	—	114,0	32,9	9,1	16,5	13,1	12,1	32,4	16,3	5,9	181	52,6	5,0

* Die eingeklammerten Zahlen bedeuten:

(1) = Einzelurin, (15) = Sammelurin von 15 Kindern, (17) = Sammelurin von 17 Kindern.

TABELLE III.

Aminosäuren-Ausscheidung in mg α -Amino-Stickstoff pro 100 g Total-Stickstoff.

Aminosäure Alter	Tau	Asp a)	Thr	Ser b)	Glu	Pro	Gly	Ala c)	Val	Met d)	Ileu d)	Leu d)	Tyr	Phe	Cys	His	Lys e)	Arg
<i>12—34 Tage:</i>																		
Urin A (1) *	42,7	48,2	63,6	203,0	40,8	140,8	982,0	184,2	13,6	38,8	18,6	21,2	27,6	13,5	41,7	15,4	72,9	11,5
Urin B (1)	40,2	27,8	49,4	54,8	40,7	64,3	561,0	122,1	13,9	14,1	13,1	14,9	15,2	11,9	—	118	92,0	7,0
Urin C (1)	178,8	35,7	55,5	268,3	42,5	98,2	623,0	247,2	44,7	52,4	43,7	60,3	50,5	35,9	88,2	161	187	34,7
Urin D (15)	66,0	35,5	74,6	183,2	44,3	68,0	742,0	185,0	42,8	25,0	24,5	46,8	28,5	19,6	44,2	207	193	13,3
<i>5—15 Monate:</i>																		
Urin E (1)	19,5	18,2	30,9	107,3	16,4	4,6	158,8	79,8	15,6	13,0	11,6	10,4	31,4	20,4	7,1	132	58,6	2,3
Urin F (1)	19,4	14,6	58,5	158,5	26,5	4,6	567,0	110,9	19,9	14,1	13,1	15,6	30,5	22,4	4,5	183	72,1	2,2
Urin G (1)	12,7	24,5	49,2	69,0	31,3	12,1	223,1	103,2	21,5	15,2	13,1	10,5	29,4	17,8	3,8	131	91,2	1,7
Urin H (15)	14,9	21,5	35,6	72,2	27,3	6,8	208,0	72,8	10,5	13,8	11,9	9,3	21,0	14,9	4,0	138	75,7	2,3
<i>11—16 Jahre:</i>																		
Urin I (1)	92,6	13,4	27,6	71,8	10,7	—	164,0	43,8	13,0	13,1	11,2	12,7	31,0	12,4	10,4	162	43,1	4,6
Urin K (1)	90,1	13,0	18,9	61,9	5,8	—	145,0	31,2	7,3	9,1	6,3	5,7	13,9	9,3	5,0	156	24,7	3,3
Urin L (1)	93,2	26,2	40,7	97,9	30,4	4,0	227,0	48,3	14,0	14,2	12,9	10,5	41,2	14,4	8,1	263	53,3	3,5
Urin M (17)	106,8	18,7	30,6	72,9	26,1	—	200,7	48,8	10,3	14,6	13,2	12,2	23,6	13,1	6,4	154	47,4	3,8

* Die eingeklammerten Zahlen bedeuten:

(1) = Einzelurin, (15) = Sammelurin von 15 Kindern, (17) = Sammelurin von 17 Kindern.

der 12—34 Tage alten Säuglinge und entsprechen in ihrer Größenordnung, mit Ausnahme von Taurin, viel eher den Werten der 11—16 Jahre alten Kinder. Die 12—34 Tage alten Säuglinge scheiden durchschnittlich ca. 2% des totalen Urin-Stickstoffs in Form von α -Amino-Stickstoff aus. Bei den 5—15 Monate alten Säuglingen liegt der prozentuale Anteil des α -Amino-Stickstoffs am Total-Stickstoff bei ca. 0,76% und bei den 11—16 Jahre alten Kindern bei ca. 0,80%. *Stein* (12) findet beim normalen Erwachsenen einen Wert von 0,7%, und *Dustin, Moore* und *Bigwood* (13) geben für einen 25 Tage alten Säugling 2,9% und für Erwachsene 1,1% an.

Wir möchten auf eine physiologische Interpretation des in den Tabellen zusammengestellten Zahlenmaterials verzichten, da sie nur auf hypothetischen Grundlagen fußen könnte. Wir hoffen jedoch, durch die Untersuchung von Urin weiterer Altersgruppen und durch entsprechende Plasmaanalysen ein abgerundetes Bild zu erhalten, das eine Interpretation eher rechtfertigt. Dagegen scheint es richtig, das Zahlenmaterial unter dem methodisch analytischen Gesichtspunkt kurz zu kommentieren.

Anmerkungen.

a) Die Werte für die Asparaginsäure sind etwas hoch, da nicht berücksichtigt wurde, daß die Asparaginsäurefraktion zum Teil Oxyprolin enthält, welches nicht quantitativ ausgewertet wurde. Seine Anwesenheit konnte jedoch anhand des gelben Reaktionsproduktes mit Ninhydrin festgestellt werden bei 12—34 Tage alten Säuglingen, bei einem Teil der 5—15 Monate alten Säuglinge, jedoch nur in einem Fall bei den 11—16 Jahre alten Kindern. Dieser Befund ist interessant, da der Urin dieses Kindes als einziger aus dieser Altersklasse auch bestimmbare Mengen Prolin enthielt. Um die Lage der Asparaginsäure im Säulenchromatogramm einwandfrei festzustellen, wurden einerseits die fraglichen Fraktionen entsalzt (14) und papierchromatographisch analysiert (12). Andererseits haben wir eine zur Analyse gelangende Urinprobe mit einer abgewogenen Menge Asparaginsäure versetzt. Die jetzt anfallende Asparaginsäure-Fraktion enthielt außer der ursprünglichen Asparaginsäure 99 % der zugesetzten Menge; der Zusatz bewirkte keine Asymmetrie der Elutionskurve.

b) Serin und Asparagin können in dem verwendeten Chromatographiersystem nicht getrennt werden. Es wurde nie der Versuch unternommen, durch Urin-Hydrolyse und Bestimmung der gebildeten Asparaginsäure den Anteil an Asparagin zu bestim-

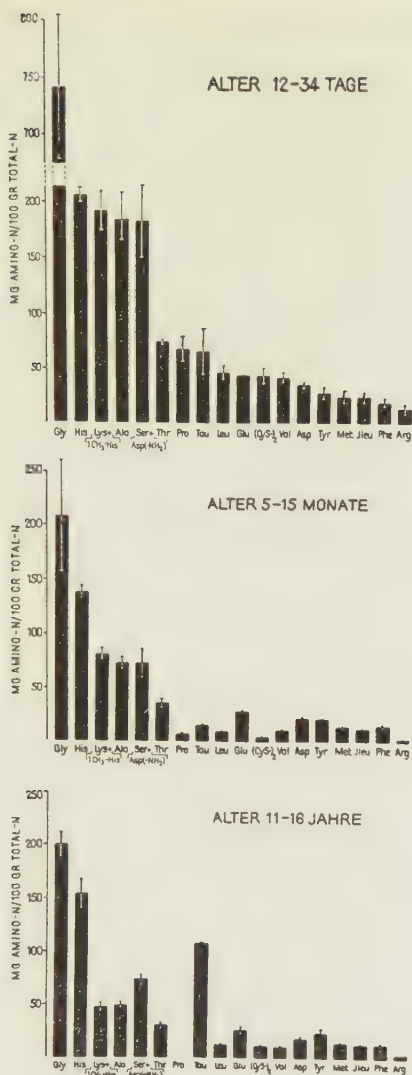


Abb. 2. Die Säulen des Histogrammes geben Mittelwerte an (Mischharn von 15 Individuen). Der senkrechte Strich am Ende der Säulen markiert die Standard-Abweichung der Stichprobenmittelwerte.

men. Die Berechnung der in den Tabellen II und III sowie in der Abbildung 2 aufgeführten Werte erfolgte auf Grund der Konstanten (Farbwert, Molekulargewicht) von Serin; die Anwesenheit von Asparagin wurde nicht berücksichtigt. Stein (12) fand durch zwei Hydrolysen von Erwachsenen-Urin ungefähr gleiche molare Mengen Asparagin und Serin.

c) Alanin und Aminoadipinsäure werden gleichzeitig eluiert. Die papierchromatographische Kontrolle ergab jedoch nur die Anwesenheit geringster Mengen Aminoadipinsäure, weshalb auf eine

quantitative Bestimmung verzichtet und die ganze Fraktion als Alanin berechnet wurde.

d) In der Gegend von Methionin, Isoleucin und Leucin liegen eine Anzahl noch nicht identifizierter, ninhydrinpositiver Substanzen vor. Die Trennung in diesem Gebiet war daher oft etwas mangelhaft. Man muß annehmen, daß die berechneten Mengen dieser drei Aminosäuren mit einem größeren Fehler behaftet sind als bei Vorliegen eines künstlichen Gemisches bekannter Aminosäuren. Um einen Anhaltspunkt über die Fehlergrenze in diesem Bereich zu erhalten, wurde einem Urin Leucin, einem andern Urin Methionin zugesetzt. Die Zunahme an Leucin betrug 106%, die Zunahme an Methionin 93% der Theorie. Die mittlere Abweichung der Einzelwerte dürfte somit ca. $\pm 10\%$ betragen.

e) Auf der 15 cm langen Dowex-50-Säule kann keine Trennung von Lysin und Methylhistidin erreicht werden. Eventuell enthält diese Fraktion, die als Lysin berechnet wurde, auch noch kleine Mengen Carnosin und Anserin.

Zusammenfassung.

Anlaß zur vorliegenden Arbeit gaben im Kinderspital Basel durchgeführte Untersuchungen über den prozentualen Anteil des α -Amino-Stickstoffs am Total-Stickstoff im 24-Stunden-Urin in Abhängigkeit vom Lebensalter. In der Folge war es wünschenswert, zu wissen, welche Mengen jeder einzelnen Aminosäure im Urin ausgeschieden werden. Eine geeignete Methode zur Durchführung dieser Urinuntersuchungen wurde in der Chromatographie an Ionenaustauschern nach *Moore* und *Stein* gefunden. Die Ausbeuten in Testversuchen lagen zwischen 98 und 102,5% mit einer mittleren Abweichung der Einzelwerte von höchstens $\pm 4,9\%$. Unter Auswertung der an künstlichen Gemischen gewonnenen Erfahrungen wurden Urinanalysen an folgenden drei Altersgruppen durchgeführt:

Säuglinge	12—34 Tage alt,
Säuglinge	5—15 Monate alt,
Kinder	11—16 Jahre alt.

Um jeweilen einen möglichst zuverlässigen Mittelwert zu erhalten, wurden 15—17 Urinproben aus jeder Altersklasse zu einem Sammelurin vereinigt. Die Berechnung der Streuung dieses Mittelwertes erfolgte durch statistische Auswertung von je drei zusätzlich zum Sammelurin durchgeführten Einzelurinanalysen.

Die Versuchsergebnisse wurden dargestellt als

1. absolute Mengen der einzelnen Aminosäuren, die in 24 Stunden ausgeschieden werden;
2. Menge α -Amino-Stickstoff der einzelnen Aminosäuren pro 100 g Total-Stickstoff.

Eine physiologische Interpretation der Resultate erscheint verfrüht.

Bibliographie.

1. *Berger, H.*: Die Bestimmung der im Harn ausgeschiedenen Aminosäuren und ihre Bedeutung in der Klinik. *Schweiz. Med. Wschr.* 86: 711, 729 (1956).
— Die Amino-Stickstoff-Ausscheidung im Harn in Abhängigkeit vom Lebensalter. (Ein Beitrag zur Physiologie der Aminoacidurie.) *Ann. Paediat.* 186: 338 (1956).
— Aminoacidurie und Hyperaminoacidurie. (Physiologie und Pathologie der Aminosäurenausscheidung im Harn und deren klinische Bedeutung.) Siehe vorhergehende Arbeit in diesem Heft, p. 1—175.
2. *Moore, S. and Stein, W. H.*: Chromatography of Amino Acids on Sulfonated Polystyrene Resins. *J. Biol. Chem.* 192: 663 (1951).
3. *Moore, S. and Stein, W. H.*: Photometric Ninhydrin Method for Use in the Chromatography of Amino Acids. *J. Biol. Chem.* 176: 367 (1948).
4. *Schram, E.; Moore S. and Bigwood, E. J.*: Chromatographic Determination of Cystine as Cystic Acid. *Biochem. J.* 57: 33 (1954).
5. *Hottinger, A.; Buchner, H. und Brenner, M.*: Zur Technik der Aminosäure-Chromatographie nach Moore und Stein. *Mod. Probl. Paediat.* 1: 260 (S. Karger, Basel/New York 1954).
6. *Buchner, H.*: Quantitative Analyse von Aminosäuren-Gemischen. Aminosäuren-Ausscheidung bei Kindern verschiedener Altersstufen. *Phil.-nat.wiss. Diss.* (Basel 1957).
7. *van Dam-Bakker, A. W. I.*: Isoleucine and Alloisoleucine. *Nature* 181: 116 (1958).
8. *Schram, E.; Dustin, J. P.; Moore, S. et Bigwood, E. J.*: Application de la Chromatographie sur Echangeur d'Ions à l'Etude de la Composition des Aliments en Acides Aminés. *Anal. chim. Acta* 9: 149 (1953).
9. *Antener, I.*: Bestimmung des Totalaminosäuregehaltes im Blut nach peroraler Verabreichung von Eiweißhydrolysat (Nesmida Nestlé). *Schweiz. med. Wschr.* 81: 970 (1951).
10. *Conway, E. J.*: Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. p. 95 (Crosby Lockwood & Son Ltd., London 1950).
11. *Hoel, P. G.*: Introduction to Mathematical Statistics, p. 165 (John Wiley & Sons, New York 1947).
12. *Stein, W. H.*: A Chromatographic Investigation of Amino Acid Constituents of Normal Urine. *J. Biol. Chem.* 201: 45 (1953).
13. *Dustin, J. P.; Moore S. and Bigwood, E. J.*: Chromatographic Studies on the Excretion of Amino Acids in Early Infancy. *Metabolism* 4: 75 (1955).
14. *Drèze, A.; Moore, S. and Bigwood, E. J.*: On the Desalting of Solutions of Amino Acids by Ion Exchange. *Anal. chim. Acta* 11: 554 (1954).

Curriculum vitae.

Als Tochter des Paul Buchner, Rektor und a. o. Professor in Basel, und der Juliane geb. Kaufmann wurde ich, *Hannelore Buchner*, aus Basel, am 10. Januar 1929 in Basel geboren. Ich besuchte Primarschule und Realabteilung des Mädchengymnasiums in Basel und erwarb das Reifezeugnis im Frühjahr 1947.

Im April 1947 immatrikulierte ich mich an der Universität Basel und studierte Chemie als Hauptfach, Botanik, Hygiene-Bakteriologie und Physikalische Chemie als Nebenfächer. Ich besuchte die Kurse und Vorlesungen der folgenden Dozenten: Dr. E. Batschelet, Prof. Dr. E. Bonjour, Prof. Dr. M. Brenner, Prof. Dr. P. Buchner, Prof. Dr. H. Dahn, Prof. Dr. H. Erlenmeyer, Dr. S. Fallab, Prof. Dr. J. Gantner, Prof. Dr. M. Geiger-Huber, Prof. Dr. C. Grob, Prof. Dr. F. Grün, Prof. Dr. P. Huber, Prof. Dr. A. Janner, Prof. Dr. H. Kuhn, Prof. Dr. W. Kuhn, Prof. Dr. E. Miescher, Prof. Dr. A. Portmann, Prof. Dr. H. Reinhardt, Prof. Dr. T. Reichstein, Prof. Dr. E. Schlittler, Dr. E. Sorkin, Prof. Dr. A. Speiser, Prof. Dr. J. Tomcsik, Prof. Dr. R. Wizinger.

Am 28. Mai 1949 bestand ich das Vorexamen in anorganischer Chemie, am 3. September 1952 das Vorexamen in organischer Chemie und am 9. Februar 1954 das Vorexamen in Farbchemie. Die Nebenfachexamina wurden erledigt: Botanik am 22. Mai 1951, Hygiene-Bakteriologie am 30. April 1954 und Physikalische Chemie am 28. Juni 1954.

Unter der Leitung von Prof. Dr. M. Brenner arbeitete ich vom September 1952 bis zum Februar 1957 an der vorliegenden Dissertation.

Am 1. Juli 1954 wurde mir die Leitung der Laboratorien des Basler Kinderspitals übertragen. Dank dem Entgegenkommen der Direktion (Prof. Dr. A. Hottinger) war es mir möglich, weiterhin an meiner Dissertation zu arbeiten.

